



Co TED Agarose Beads 6FF

货号: QS01006

目录

1、产品概览	1
2、核心优势	2
3、使用流程指南	3
4、在位清洗 (CIP) 方案	3
5、常见问题解决方案	4
6、订购信息	4

1、产品概览

Co TED Agarose Beads 6FF 是一种以**高度交联 6%琼脂糖微球**为基质，通过**三羧甲基乙二胺 (TED) 配体**螯合钴离子 (Co^{2+}) 形成的新型金属螯合亲和层析介质。其独特的五齿螯合结构赋予钴离子超强稳定性，可耐受高浓度还原剂 (DTT、 β -巯基乙醇) 及螯合剂 (EDTA)，特别适用于**真核分泌表达系统** (如哺乳动物细胞、昆虫细胞培养上清) 及**苛刻条件**下 His 标签蛋白的高效纯化。

产品性质与技术参数

下表总结了 Co TED Agarose Beads 6FF 的核心技术特性：

属性	技术参数
基质	高度交联 6%琼脂糖凝胶
平均粒径	45-165 μm (90 μm)
蛋白结合载量	>10 mg 6 $\times$ His 标签蛋白(30 kDa)/mL 基质
最大耐压	0.3 MPa (3 bar)



属性	技术参数
储存缓冲液	含 20%乙醇的 1×PBS
储存温度	2-8℃ (严禁冻存)

试剂耐受性:

试剂	耐受条件
10 mM EDTA, 5 mM DTT	24 小时连续接触
1 M NaOH, 6 M 盐酸胍	24 小时连续接触
500 mM 咪唑, 100 mM EDTA	2 小时连续接触
30%异丙醇	20 分钟连续接触
8 M 尿素, 0.1% Triton X-100	24 小时连续接触

2、核心优势

1) 卓越的选择性

- **钴离子特性:** Co^{2+} 离子半径大于 Ni^{2+} , 与组氨酸的**结合亲和力适度降低**, 可减少非特异性吸附, 尤其适用于**宿主细胞蛋白 (HCP) 含量高的真核表达系统**
- 在哺乳动物细胞培养上清纯化中, **纯度比 Ni 基介质提高 30-50%**

2) 超强化学耐受性

- **TED 五齿螯合:** 通过五个配位键锁定 Co^{2+} , 即使存在 10 mM EDTA 或 5 mM DTT 时, **金属离子脱落率 < 0.5%**
- 直接兼容含**还原剂、螯合剂、变性剂** (6M 盐酸胍、8M 尿素) 的样品, **无需透析预处理**

3) 高载量与高流速

- **6%高交联琼脂糖基质:** 机械强度提升 3 倍, **耐受流速达 600 cm/h**, 支持工业级放大生产
- 动态载量 > 10 mg/mL (40 kDa His 标签蛋白), **适合高丰度蛋白捕获**



4) 稳定性与重复性

- 经 100 次循环使用后, **载量保持率>90%**
- 支持**原位清洗 (CIP)** 与**原位灭菌 (SIP)**, 可用 1 M NaOH 进行消毒验证

3、使用流程指南

1) 缓冲液配制

平衡缓冲液: 20 mM PB, 0.5 M NaCl, pH 7.4

洗杂缓冲液: 20 mM PB, 0.5 M NaCl, 10-30 mM 咪唑, pH 7.4

洗脱缓冲液: 20 mM PB, 0.5 M NaCl, 150-300 mM 咪唑, pH 7.4

注意: 所有缓冲液需经 0.22 μm 滤膜过滤, 建议添加 5-10 mM β -巯基乙醇维持蛋白稳定性

2) 样品预处理

- **细菌/酵母裂解液:** 离心(12,000 $\times g$, 15 min)后取上清, 0.45 μm 过滤
- **哺乳细胞培养上清:** 直接 0.45 μm 过滤, **无需去除 EDTA 或还原剂**
- **包涵体样品:** 用 8 M 尿素或 6 M 盐酸胍溶解后直接上样

3) 装柱操作

1. 树脂室温平衡, 悬液脱气
2. 层析柱垂直固定, 注入 1 cm 高去离子水
3. 匀浆一次性沿壁倒入 (凝胶:缓冲液=3:1)
4. 自然沉降后连接泵, 依次用:
 - 5 CV 平衡缓冲液 (操作流速)
 - 5 CV 缓冲液 (1.5 倍流速)
 - 2-3 CV 缓冲液 (最终平衡)

4) 上样与洗脱

1. 平衡: 5 CV 平衡缓冲液, 监测 UV 基线
2. 上样: 样品体积 $\leq$ 25%柱床体积 (CV)
3. 洗杂: 10-15 CV 洗杂缓冲液, 至 UV 稳定
4. 洗脱: 梯度/线性洗脱 (5 CV 洗脱缓冲液)
5. 再生: 5 CV 0.5M HCl $\rightarrow$ 5 CV 0.5M NaOH $\rightarrow$ 5 CV 0.5M HCl $\rightarrow$ 纯水洗至中性 $\rightarrow$ 2 CV 100mM CoSO₄ $\rightarrow$ 20% 乙醇溶液保存。

4、在位清洗 (CIP) 方案

当出现**反压升高**或**载量下降**时, 按需选择清洗方案:



- **疏水性污染物**（脂蛋白、沉淀蛋白）：
30%异丙醇，5-10 CV，接触 20 min → H₂O 冲洗 10 CV
- **强吸附蛋白残留**：
0.1 M 醋酸 + 0.5% Triton X-100，2 CV，浸泡 1 h → 70%乙醇洗 5 CV → H₂O 洗 10 CV
- **金属离子污染**：
100 mM EDTA, 2 CV → H₂O 洗至中性

5、常见问题解决方案

下表列出了使用过程中的常见问题及解决方案：

问题现象	可能原因	解决方案
柱子反压过高	样品含固体颗粒/填料堵塞	样品 0.45 μm 过滤；按 CIP 流程清洗
洗脱峰拖尾	结合力过强或洗脱不充分	增加咪唑至 500 mM；添加 10%甘油
洗脱组分无目的蛋白	标签暴露不充分/蛋白未表达	WB 验证表达；优化裂解条件
纯化后纯度低	洗杂不充分/非特异性吸附	洗杂缓冲液添加 30 mM 咪唑
金属离子析出（淡粉色）	长期暴露于还原剂	再生后重新载入 Co ²⁺

6、订购信息

Co TED Agarose Beads 6FF 提供多规格包装，满足不同规模需求：

产品货号	规格	储存条件	目录价
QS01006-5	5 mL	2-8°C (20%乙醇)	¥2,56



产品货号	规格	储存条件	目录价
QS01006-25	25 mL	2-8℃ (20%乙醇)	¥10,40
QS01006-100	100 mL	2-8℃ (20%乙醇)	¥37,20
QS01006-500	500 mL	2-8℃ (20%乙醇)	询价

免责声明

本产品**仅限于科研用途**，不得用于诊断或治疗应用。操作时请穿实验服并佩戴防护手套。
建议配合中压层析系统使用。

提示：性能可能因样品性质、操作条件而异，建议先进行小规模预实验优化条件。